

**Reg.-Nr.: MF 110070****Kurztitel: Entwicklung von bioaktiven Cellulosefasern mit dermatokosmetischen Wirkstoffen****Laufzeit: 01.10.2011 – 30.09.2013**

Name und Anschrift des Zuwendungsempfängers

Thüringisches Institut für Textil- und Kunststoff-Forschung e.V.

Breitscheidstraße 97

07407 Rudolstadt

Kurzfassung (Zielstellung, technische und wirtschaftliche Ergebnisse)

Ziel des FuE-Vorhabens war die Optimierung des ALCERU-Verfahrens hinsichtlich der Herstellung von Cellulosefasern mit integrierten dermatokosmetischen Wirkstoffen. Erreicht werden können diese dermatokosmetischen Eigenschaften, wie antioxidative Aktivität, Wundheilungsförderung und Kanzeroprotektion, durch die Inkorporation eines Vitamins, wobei verschiedene Vitamine diese Wirkungen auslösen. Zur Integration in Cellulosefasern, die mittels des ALCERU-Verfahrens produziert werden, eignen sich vor allem die lipophilen Vitamine, wie das Vitamin A und das Vitamin E.

Das Lyocellverfahren konnte entsprechend der Anforderungen zur Herstellung von Cellulosefasern mit integrierten, lipophilen Trägerstoffen und dermatologisch aktiven Wirkstoffen modifiziert werden. Während des Entwicklungsprozesses wurde das Vitamin E (DL-Tocopherol) als antioxidativ aktivste Wirksubstanz nach der Inkorporierung identifiziert. Als effektive Trägersubstanzen können Olivenöl, Rapsöl und Paraffin RT27 verwendet werden. Die mit Vitamin E funktionalisierten Cellulosefasern zeigen sehr gute antioxidative Aktivität, welche über 10 Waschzyklen stabil vorliegt. Ebenso positiv waren die Untersuchungen zur Lagerstabilität. Obwohl die beste Lagerstabilität bei einer Lagerungstemperatur von 5°C gegeben ist, zeigen die Cellulosefasern, die 12 Monate bei Raumtemperatur und O<sub>2</sub> Einfluss gelagert wurden, immer noch über 45% ihrer anfänglichen antioxidativen Wirksamkeit. Die entwickelten und optimierten Cellulosefasern weisen hervorragende Bioverträglichkeit auf. Die Resultate zeigten sogar, dass die Faserextrakte zellproliferationsfördernde Eigenschaften aufweisen, die auf das integrierte Vitamin E zurückgeführt werden können. Abschließend konnte ein erstes Garn und damit sogar Textilien in Form von Strümpfen hergestellt werden. Diese, bis zum Endprodukt verarbeiteten Textilien, zeigen effektive antioxidative Aktivität und weisen ebenfalls keine toxischen Eigenschaften auf. Es ist so gelungen ein Verfahren zur Herstellung von biokompatiblen Cellulosefasern mit integrierten, dermato-kosmetisch wirksamen Bestandteilen zu entwickeln.

Unterschrift des Projektleiters

rechtsverbindliche Unterschrift

**Sachbericht (Schlussbericht)**

zum Verwendungsnachweis

zu FuE Vorhaben

<b>Reg.-Nr.:</b>	<b>MF 110070</b>
<b>FuE-Einrichtung:</b>	<b>Thüringisches Institut für Textil- und Kunststoff-Forschung e.V.</b>
<b>Titel:</b>	<b>Entwicklung von bioaktiven Cellulosefasern mit dermatologischen Wirkstoffen</b>
<b>Projektlaufzeit:</b>	<b>01.10.2011 – 30.09.2013</b>

Rudolstadt, den 31.03.2014

---

Name und Telefonnummer des Projektleiters: Peggy Brückner, Tel.: 03672 379521

---

Firmenstempel

---

Unterschrift des Projektleiters

rechtsverbindliche Unterschrift

## Inhaltsverzeichnis

<b>1. Zielstellung des Vorhabens</b>	<b>1</b>
<b>2. Darstellung der erzielten Vorhabensergebnisse</b>	<b>2</b>
2.1. Dermatokosmetische Ausrüstung von Cellulosefasern	2
2.2. Auswahl, Charakterisierung und Eignungstestung von Inhaltsstoffen	4
2.3. Verfahrensentwicklung zur Stabilisierung der Celluloselösungen	6
2.4. Herstellung von funktionalisierten Cellulosefasern mittels des Aminooxidverfahrens	7
2.4.1. Optimierung der Zusammensetzung der Cellulose-Spinnlösung	7
2.4.2. Ausspinnen von Cellulosemischungen zu Stapelfasern	8
2.4.3. Versuch im kleintechnischen Maßstab	9
2.5. Chemisch-physikalische Charakterisierung der Cellulosefasern	10
2.6. Biologische Bewertung der Cellulosefasern	11
2.6.1. Antioxidative Kapazität von Cellulosefasern	11
2.6.1.1. Ermittlung des idealen lipophilen Trägerstoffes	11
2.6.1.2. Antioxidative Wirkung von Cellulosefasern mit verschiedenen Vitaminen	12
2.6.2. <i>In vitro</i> -Zytotoxizität	14
2.7. Ermittlung der Lagerstabilität optimierter Cellulosefasern	17
2.8. Nachweis der Waschbeständigkeit der Cellulosefasern	19
2.9. Herstellung und Charakterisierung von Garnmaterial mit funktionalisierter Cellulosefaser	20
<b>3. Bewertung der erzielten Ergebnisse</b>	<b>24</b>
<b>4. Wirtschaftliche Verwertung der Vorhabensergebnisse, aktualisierter Verwertungsplan</b>	<b>25</b>
<b>5. Bewertung des aktualisierten Verwertungsplanes im Vergleich zum ursprünglichen Verwertungskonzept</b>	<b>27</b>
<b>6. Angaben zu erworbenen bzw. angemeldeten Schutzrechten für die Vorhabensergebnisse</b>	<b>28</b>
<b>7. Zusammenstellung aller erfolgten bzw. geplanten Veröffentlichungen</b>	<b>29</b>

## 1. Zielstellung des Vorhabens

Die Zielstellung des Forschungsvorhabens war, Cellulosefasern mit dermatokosmetischen Wirkstoffen auszustatten und Fasern mit hautregenerativen, wundheilungsfördernden und kanzeroprotektiven Eigenschaften herzustellen. Im Mittelpunkt der Arbeiten stand die Optimierung des ALCERU®-Verfahrens und der damit verbundenen Überwindung der thermodynamischen Unverträglichkeit zwischen der hydrophilen Cellulosematrix und dem lipophilen Wirkstoff. Für die Anwendung als topische Applikation mit dem Ziel die Regeneration und die Protektion der Hautzellen positiv zu beeinflussen, standen die lipophilen Vitamine Retinol (Vitamin A),  $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E) und  $\alpha$ -Liponsäure (Thioctsäure) im Fokus der Forschungsarbeiten.

Zu Beginn des Projektes waren mittels einer umfassenden Literatur- und Patentrecherche grundlegende Fragen zu effektiven dermatologisch-wirksamen Additiven, zu bereits bestehenden Herstellungsverfahren, sowie deren Patenten zu klären.

Die dermatologische Aktivität von Substanzen, Fasern und textilen Materialien kann über die antioxidative Wirkung detektiert werden. Aus diesem Grund musste ein geeignetes Nachweisverfahren etabliert werden. Entsprechend erfolgte die Anpassung des TEAC-Assays (*Trolox equivalent antioxidative capacity*) nach Re *et al.* 1999<sup>1</sup> an die verschiedenen Prüfkörper.

In der Projektplanung war vorgesehen die Stabilisierung der Spinnlösung durch die Ermittlung der idealen Additiv-Konzentration in der Cellulose/NMMO Lösung zu erreichen. Alternativ bestand die Möglichkeit des Einsatzes von Stabilisatorsystemen unter der Betrachtung der Eigenschaftsveränderung der Cellulosemischung. Nachfolgend war die Etablierung und Optimierung der Faserherstellung geplant. In diesem Zusammenhang mussten chemische und physikalische Kriterien der Spinnlösung als auch des Endproduktes, der Cellulosefaser, untersucht werden.

Die wichtigste Charakterisierung der hergestellten Fasern war die Detektion der dermatologischen Wirksamkeit und die Bestimmung der *in vitro*-Zytotoxizität. Ebenso war die geplante Ermittlung der Lager- und Waschbeständigkeit von großem Interesse. Abschließend war die Herstellung von Garnmaterial im Forschungsvorhaben geplant.

---

<sup>1</sup> Re *et al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical & Medicine, Vol. 26, 9/10, pp. 1231-1237, 1999

## 2. Darstellung der erzielten Vorhabensergebnisse

### 2.1. Dermatokosmetische Ausrüstung von Cellulosefasern

Die Vermarktung einer Cellulosefaser mit integrierten, dermatokosmetischen Wirkstoffen ist nur wirtschaftlich, wenn ein innovatives und nicht patentiertes Herstellungsverfahren und nachweislich effektive Wirkstoffe verwendet werden. Dementsprechend war zu Beginn des Projektes eine ausführliche Recherche der in Frage kommenden wirtschaftlichen Wirkstoffe und eine umfassende Patentrecherche zu bereits bestehenden Herstellungsverfahren erforderlich.

Die Permeabilität von Wirkstoffen wird durch den Einsatz von lipophilen Trägersubstanzen in die Haut durch deren lipophilen Charakter begünstigt<sup>1</sup>. Demzufolge kommen in erster Linie fettlösliche Wirkstoffe für eine effektive dermatokosmetische Wirkung zur Minderung von Hautschädigungen bzw. Verlangsamung der Hautalterung in Frage. Geeignete lipophile Wirkstoffe mit nachgewiesener dermatologischer Wirkung sind mit der Angabe ihrer Anschaffungskosten in Tabelle 1 aufgeführt.

**Tabelle 1:** Geeignete Vitamine und ihre Anschaffungskosten.

Vitamin	Herstelle	Kaufpreis [€/kg]	Wirtschaftlichkeit
Tocopherol, mixed	Sigma Aldrich	13,00-190,00	positiv
DL- $\alpha$ -Tocopherol	BASF Chem Trade GmbH	58,40-81,50	positiv
Vitamin E-Acetat	BASF Chem Trade GmbH	37,40-65,55	positiv
Retinol (Vitamin A)	BASF Chem Trade	390,00-419,70	positiv
Vitamin A-Acetat	BASF Chem Trade	71,50	positiv
Vitamin A-Palmitat	BASF Chem Trade	68,90-100,40	positiv
Retinolsäure	Alpha Aesar	142.500,00	negative
$\alpha$ -Liponsäure	B.M.P. Pharma Trading GmbH	6.520,84-8.380,00	negative

Aufgrund der hohen Anschaffungskosten wurden die Versuche zur Integration von Retinolsäure und  $\alpha$ -Liponsäure abweichend vom Arbeitsplan des Projektes nicht weiter verfolgt.

In der Veröffentlichung von Sasaki *et al.* ist die Ausrüstung von Cellulosehohlfasern mit Vitamin E beschrieben. Die Inkorporation des Wirkstoffes wurde durch Modifizierung der inneren Oberfläche mit einem synthetischen Polymer erreicht<sup>2</sup>. In der Publikation zu Retinylacetat-Nanopartikeln wird dargelegt, dass durch die Einlagerung von Ethylcellulose die Stabilität gesteigert werden konnte<sup>3</sup>. Des Weiteren fanden Wissenschaftler heraus, dass durch das Elektroverspinnen von Celluloseacetatfasern mit Tocopherol und Retinol eine

<sup>1</sup> Heuschkel S. und Neubert R. H. H.: Mikroemulsionen zur dermalen Applikation von Arzneistoffen; Chemie Ingenieure Technik 2005, 77, No3, pp239-243

<sup>2</sup> Sasaki et al. Vitamin E modified cellulose membrane. Artif Organs. 2000 Oct;24(10):779-89.

<sup>3</sup> Arayachukeat, S. et al. Retinyl acetate-loaded nanoparticles: dermal penetration and release of the retinyl acetate. Int J Pharm. 2011 Feb 14;404(1-2):281-8.

verlangsamte Freisetzung der Vitamine im Vergleich zu Filmen aus Celluloseacetat erzielt werden kann<sup>1</sup>.

Die Überprüfung bestehender Patente ergab, dass zahlreiche Schutzrechte zu dermatologischen Arzneistoffen, in denen die Vitamine A und E bzw. antioxidative Wirkstoffe zur Behandlung von Akne und Psoriasis verwendet werden, vorliegen<sup>2,3,4</sup>.

Die Schutzrechtuntersuchung bezüglich der Herstellungsverfahren von funktionalen Cellulosefasern mit dermatokosmetischen Wirkstoffen ergab nur wenige Patente. In dem Patent JP3424114 wird ein Verfahren zur Herstellung von Cellulosefasern mit antimikrobiellen und antioxidativen Eigenschaften beschrieben<sup>5</sup>. Als Wirkstoffe sind Pflanzenwirkstoffe mit antibakterieller und antioxidativer Wirkung im Allgemeinen aufgeführt. Das Patent JP4314453 schützt ein Verfahren, bei dem an die hydrophobe Materialoberseite, welche aus Cellulose oder einem Cellulose-Derivat besteht, funktionale Gruppen von lipophilen Vitaminen angelagert werden. Ein antioxidatives Wundmaterial wird in dem Schutzrecht EP 1641499<sup>6</sup> beschrieben. Das Wundverbandsmaterial umfasst die Substrate Kollagen, Chitosan und oxidierte, regenerierte Cellulose, welche mit einem antioxidativen Farbstoff, wie Anilin- oder Acridin, modifiziert wird. Des Weiteren liegt ein Patent zur Herstellung von Vliesstoffen vor, welche mit zwei oder mehr Arten von Desinfektionsmitteln sowie Vitamin E oder Vitamin C durch ein Tauchverfahren ausgerüstet werden<sup>7</sup>.

Die Patentrecherche ergab, dass neben den Schutzrechten des TITK<sup>8,9</sup> keine weiteren Verfahren zur Herstellung von Cellulosefasern mit inkorporierten lipophilen Wirkstoffen bekannt sind.

---

<sup>1</sup> Taepaiboon P. et al. Vitamin-loaded electrospun cellulose acetate nanofiber mats as transdermal and dermal therapeutic agents of vitamin A acid and vitamin E. Eur J Pharm Biopharm. 2007 Sep;67(2):387-97.

<sup>2</sup> EP 1469823 B1: Kosmetische oder dermatologische Verwendung von Vitamin A oder deren Estern in Kombination mit einem teilweise methylierten Beta-cyclodextrin

<sup>3</sup> US 2756177 A: Process for making fat-soluble vitamin active powder

<sup>4</sup> WO 2003032941 A2: Kosmetische und/oder dermatologische Wirkstoffkombination

<sup>5</sup> JP3424114 MODIFIED CELLULOSIC REGENERATED FIBER AND ITS PRODUCTION

<sup>6</sup> EP 1641499 antioxidant wound dressing materials

<sup>7</sup> JP2000239966 Bacteria-eliminating nonwoven fabrics for food processing machineries and cleaning wet tissues manufactured by impregnating nonwoven fabrics with aqueous solutions containing ethanol, vitamin E and vitamin C

<sup>8</sup> EP2225410 Process for producing cellulosic molded articles with stabilized inclusions of at least one nonpolar organic material due to the dry-wet extrusion process

<sup>9</sup> DE102007054702 Verfahren zur Herstellung von cellulosischen Formkörpern, cellulosischer Formkörper und dessen Verwendung

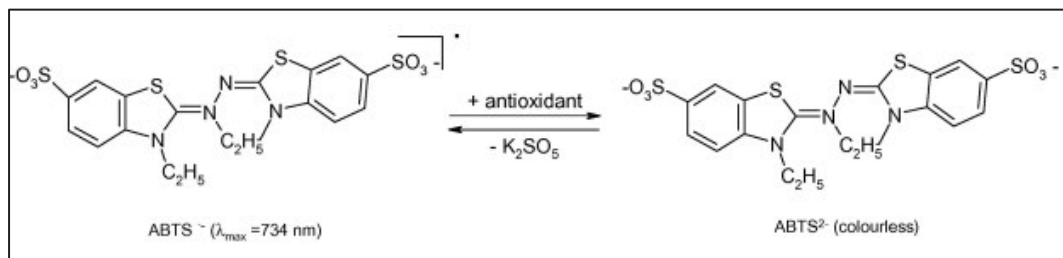
## 2.2. Auswahl, Charakterisierung und Eignungstestung von Inhaltsstoffen

Anhand der Recherchedaten und der Beurteilung des effektiven wirtschaftlichen Einsatzes der Vitamine wurden die in Tabelle 2 aufgelisteten Vitamine und deren Derivate für die Integration in Cellulosefasern ausgewählt. Die Charakterisierung der dermatologischen Wirkung der Vitamine wurde anhand ihrer antioxidativen Aktivität untersucht.

**Tabelle 2:** Ausgewählte lipophile Vitamine.

Vitamin	Herstelle
Tocopherol, mixed	Sigma Aldrich
DL- $\alpha$ -Tocopherol	BASF Chem Trade GmbH
Vitamin E-Acetat	BASF Chem Trade GmbH
Retinol	BASF Chem Trade
Vitamin A-Acetat	BASF Chem Trade
Vitamin A-Palmitat	BASF Chem Trade

Zur Bestimmung der antioxidativen Wirksamkeit der Vitamine wurde der nach Re *et al.* 1999<sup>1</sup> modifizierte TEAC-Assays (*Trolox equivalent antioxidative capacity*) etabliert. Bei diesem optimierten TEAC-Test wird die Umsetzung von radikalischem ABTS (Diammonium-2,2'-Azino-Di-(3-Ethylbenzthiazollin-6-Sulfonsäure) zu farblosen ABTS genutzt, um den Einfluss von Antioxidantien auf diese Reaktion zu quantifizieren (Abbildung 1). Die Umsetzung des radikalischen ABTS ruft einen Farbumschlag hervor und lässt sich bei 734nm photometrisch quantifizieren. Dabei dient Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-Tetramethylchroman-2-Carbonsäure) als antioxidative Referenzsubstanz.



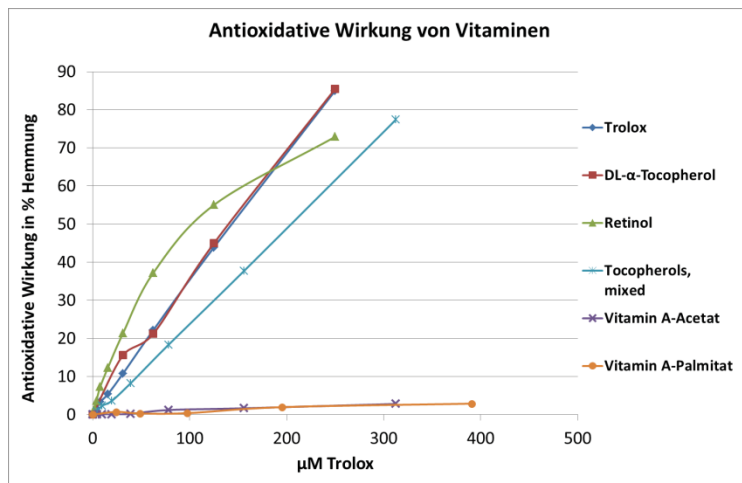
**Abbildung 1:** Reaktion von radikalischem ABTS (grün) zu ABTS (farblos) nach dem modifizierten TEAC-Assay.

Für die Testung der Vitamine und der Faserextrakte wurde das Testverfahren auf ein 96 Well-Mikrotiterplattenformat übertragen. Mit diesem Verfahren konnten anschließend die antioxidativen Werte (TEAC-Werte), sowie die antioxidative Wirkung in % Hemmung für die ausgewählten Vitamine ermittelt werden. Die antioxidative Hemmung des ABTS wurde wie folgt berechnet:

$$\text{ABTS} - \text{Radikal} - \text{Hemmung} [\%] = \frac{OD_{734\text{nm}} \text{Kontrolle} - OD_{734\text{nm}} \text{Wirkstoff}}{OD_{734\text{nm}} \text{Kontrolle}} * 100\%$$

<sup>1</sup> Re *et al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical & Medicine, Vol. 26, 9/10, pp. 1231-1237, 1999

Die ermittelten antioxidativen Wirkungen wurden in Abhängigkeit zur Konzentration von Trolox bzw. der Vitamine graphisch dargestellt (Abbildung 2).

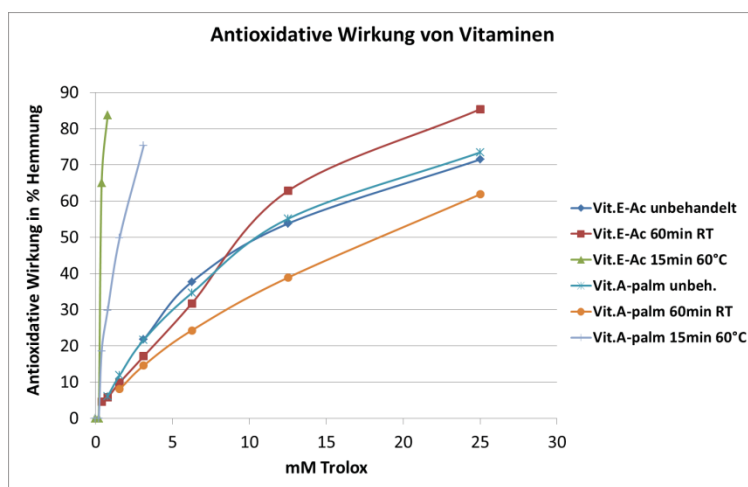


Vitamin	TEAC-Wert
Trolox	1,00
DL-α-Tocopherol	0,96
Retinol	0,89
Tocopherols, mixed	0,73
Vitamin A-Palmitat	0,02
Vitamin E-Acetat	0,01

**Abbildung 2:** Antioxidative Wirkung der Vitamine in % in Abhängigkeit von der Konzentration (Bild links). TEAC-Werte der Vitamine nach Re *et al.*, 1999 (Bild rechts).

Die TEAC-Werte für die Vitamine ergeben sich aus dem Quotienten der Anstiege der linearen Regressionsgleichungen für die Vitamine im Verhältnis zum Trolox-Wert. Somit sind Vitamine, die einen TEAC-Wert von >1 aufweisen, stärker antioxidativ wirksam als Trolox. Bei niedrigeren TEAC-Werten liegt eine reduzierte antioxidative Wirkung vor. Das Vitamin DL-α-Tocopherol zeigt die höchste antioxidative Wirksamkeit mit einem TEAC-Wert von 0,96, während eine Tocopherolmischung einen TEAC-Wert von 0,73 aufweist. Vitamin A (Retinol) hat einen TEAC-Wert von 0,89. Derivate der Vitamine A und E zeigen dagegen sehr geringe antioxidative Eigenschaften.

Die Derivate Vitamin A-Palmitat und Vitamin E-Acetat wurden mittels einer Deacetylierungsreaktion modifiziert, um anschließend deren antioxidative Wirkung zu überprüfen. Dafür wurden die Vitaminderivate mit 0,25ml 1N Natronlauge versetzt und für 15 Minuten bei 60°C inkubiert. Alternativ erfolgte die Durchführung einer 60-minütigen Inkubation bei Raumtemperatur. Diese Reaktion führte lediglich bei Vitamin E-Acetat zu einer signifikanten Verbesserung der antioxidativen Wirkung mit einem TEAC-Wert von 0,55 (Abbildung 3).



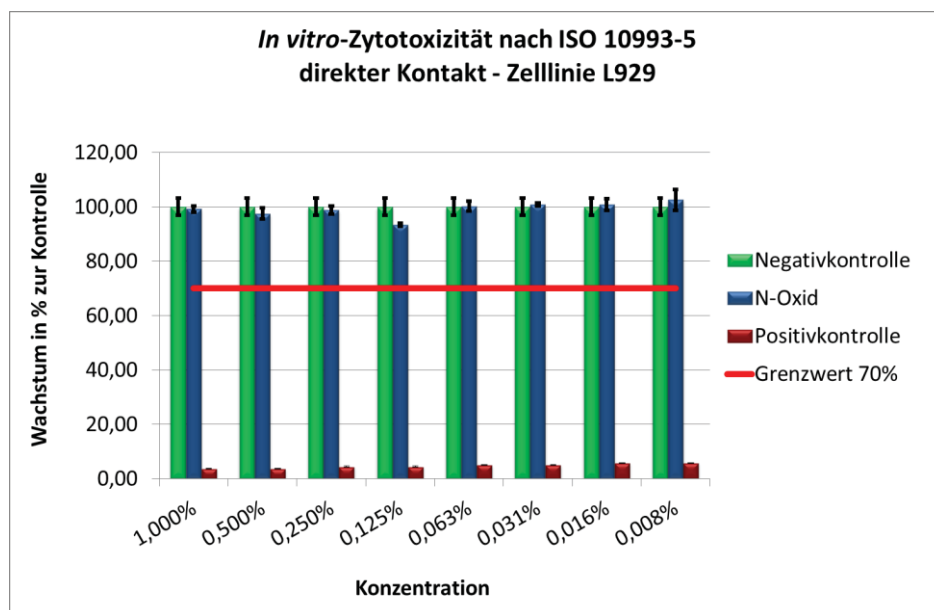
Vitamin	TEAC-Wert
Vitamin A-Palmitat 60' RT	0,01
Vitamin A-Palmitat 15' 60°C	0,06
Vitamin E-Acetat 60' RT	0,01
Vitamin E-Acetat 15' 60°C	0,55

**Abbildung 3:** Antioxidative Wirkung der Vitamine-Derivate in % in Abhängigkeit von der Konzentration (Bild links). TEAC-Werte der Vitamine nach Re *et al.*, 1999; 15' = Vorinkubation 15 min und 60°C, 60' = Vorinkubation 60 min bei Raumtemperatur (Bild rechts).



Damit konnten für weitere Versuche die Vitamine DL- $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E, BASF ChemTrade GmbH) und Retinol (Vitamin A, BASF ChemTrade GmbH) als die am besten antioxidativ wirksamsten Vitamine identifiziert werden. Das Vitaminderivat Vitamin E-Acetat eignet sich möglicherweise ebenfalls, da dieses stabiler ist, als das nicht derivatisierte Vitamin und während der Cellulosefaserherstellung mittels ALCERU-Verfahren deacetyliert werden könnte.

Die Bewertung des Lösungsmittels N-Methyl-Morpholin-N-oxid (NMMO) hinsichtlich der minimalen zytotoxischen NMMO-Konzentrationen ergab, dass eine 1,0 %ige NMMO-Konzentration keine Zellschädigungen hervorruft (Abbildung 4). Es ist so davon auszugehen, dass das Endprodukt nicht aufgrund des Einsatzes des Lösungsmittels zytotoxische Eigenschaften aufweist, insofern eine Zytotoxizität festgestellt würde.



**Abbildung 4:** Einfluss des Lösungsmittels NMMO auf die Zelllinie L929 nach 24h im direkten Kontakt. Die Darstellung des Zellwachstums erfolgt in Prozent zur Kontrolle.

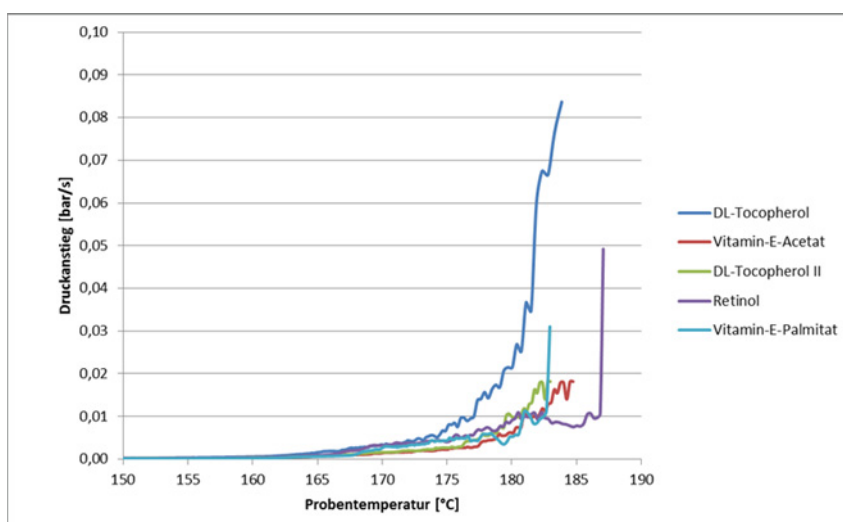
### 2.3. Verfahrensentwicklung zur Stabilisierung der Celluloselösungen

Das im Lyocellprozess verwendete Lösungsmittel N-Methyl-Morpholin-N-oxid zur Herstellung von Celluloselösungen neigt bei höheren Temperaturen zu exothermen Zersetzungsreaktionen. Aus diesem Grund mussten für den Spinnprozess die kritischen Zersetzungstemperaturen aller Spinnmassen bestimmt werden. Die Eignung der verschiedenen Spinnmassen mit eingearbeiteten Wirkstoffen kann mittels der Bestimmung der On Set-Temperatur erhalten werden. In diesem Verfahren erfolgt die Einschließung der Probe in einem Messkörper mit kleinem Volumen und anschließender linearer Erhitzung. Die Zersetzungstemperatur wird durch einen sofortigen Druckanstieg in der Kammer angezeigt. Die Untersuchungen zeigten, dass sich für alle Lyocell-Mischungen mit eingearbeiteten Vitaminen die kritischen Arbeitstemperaturen oberhalb von 150°C befanden (Tabelle 3). Diese sehr positiven Ergebnisse machten eine Optimierung durch den Einsatz von Stabilisatorsystemen nicht erforderlich und die Mischungen konnten sehr gut bei den Herstellungstemperaturen bis zu 100°C verarbeitet werden.

**Tabelle 3:** Kritische obere Arbeitstemperatur der untersuchten Vitaminzusätze.

Vitaminzusatz	Kritische obere Arbeitstemperatur [°C]
DL-Tocopherol	152
Vitamin-E-Acetat	158
DL-Tocopherol II (mehr lipophiler Speicher)	162
Retinol	154
Vitamin-E-Palmitat	158

Der Zusatz von Vitaminen zu Lyocell-Lösungen bewirkt, im Vergleich zum Zusatz von z.B. Paraffin oder anorganischen Additiven, dass das Lösungsmittel deutlich stabilere Eigenschaften aufweist. Die thermische Zersetzung der Cellulose-Vitamin-Mischungen sind in Abbildung 5 durch den Druckanstieg im *Closed-Cell*-Experiment dargestellt. Durch diese Versuche konnte gezeigt werden, dass die Spinnlösungen ohne Vitamin eine autokatalytische Zersetzung bei <160°C (hier >170°C) aufweisen. Die rheologischen Messungen unter Zusatz von Vitaminen deuten nicht auf einen verstärkten Celluloseabbau bei Arbeitstemperaturen unterhalb von 100°C.



**Abbildung 5:** Thermische Zersetzung der Cellulose-Vitamin-Lösungen.

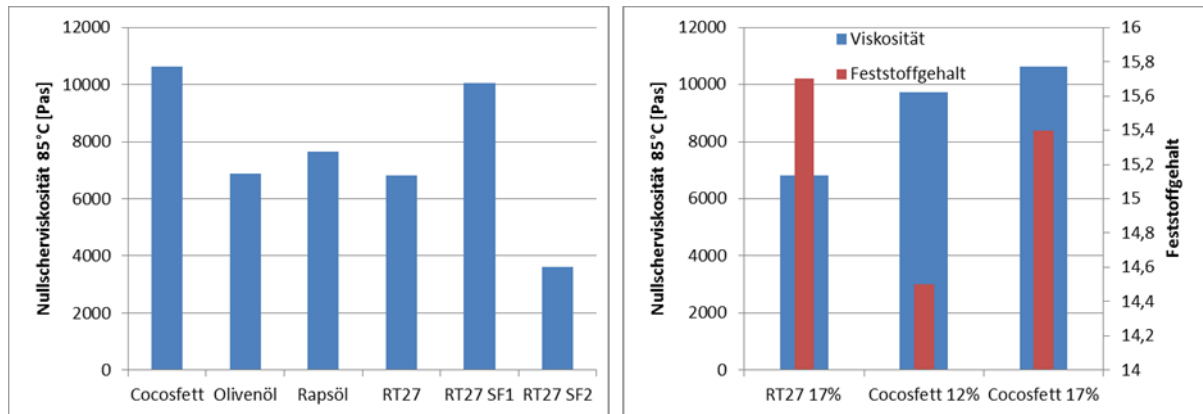
## 2.4. Herstellung von funktionalisierten Cellulosefasern mittels des Aminoxidverfahrens

### 2.4.1. Optimierung der Zusammensetzung der Cellulose-Spinnlösung

Für eine effektive Integration von fettlöslichen Vitaminen in Cellulosefasern mittels des Lyocellverfahrens bietet sich ein lipophiler Trägerstoff wie z.B. Paraffin, Fett oder verschiedene Öle an. In Kombination mit einem anorganischen Additiv kann die notwendige Stabilisierung des lipophilen Trägers in der hydrophilen Cellulose erreicht werden. Dabei fungiert der lipophile Träger als Speicher und Stabilisator für die Vitamine.

Es wurde eine Vielzahl von lipophilen Trägern in die Spinnmassen eingearbeitet, um einen potentiellen Trägerstoff zu identifizieren. Durch die Integration der lipophilen Substanzen ergeben sich Einflüsse auf die Viskosität und die Feststoffbeladung der Spinnmassen. Durch die Untersuchungen konnte ein optimaler Bereich für die Zusammensetzung der Spinnmassen bestimmt werden. Auf das rheologische Verhalten der Spinnmassen wirkt sich vor allem die Wahl des lipophilen Trägermaterials aus. Diese Viskositätsveränderungen

verursachen große Schwankungen im Spinnverhalten der Mischungen. Als geeignete Mischung zur Herstellung von Cellulosefasern mit inkorporiertem Wirkstoff wurde die Zusammensetzung von 50-70 % Cellulose mit integriertem 5-8 % Wirkstoff (Vitamin), 7-20 % des lipophilen Trägerstoffes und 15-25 % Feststoffadditive zur Phasenstabilisierung ermittelt (Abbildung 6). Außerhalb dieser Variationen der Mischungsverhältnisse war die Herstellung einer stabilen Spinnlösung und der anschließenden Verarbeitung zu Fasern nicht möglich.



**Abbildung 6:** Einfluss lipophiler Trägerstoffe für fettlösliche Vitamine in der Spinnmasse (Links, 5,7% Tocopherol mit 17% lipophilem Träger, RT27 = Paraffin mit Schmp. 27°C, SF = Spinnfärbung) und Einfluss definierter Konzentrationen (rechts 5,7% Tocopherol).

#### 2.4.2. Ausspinnen von Cellulosemischungen zu Stapelfasern

Die Stapelfasern wurden mit der Feinheit 1,8 – 2,6 dtex mit den ausgewählten Vitaminen ausgespinnen. Die erzielte Spinnqualität reichte von sehr gut (V2111) bis ausreichend (V2114). In allen Versuchen lag eine Stapelfaser mit guten textilphysikalischen Eigenschaften vor. Testungen hinsichtlich einer Direktverspinnung der Lösung im Vergleich zum Verspinnen nach einer 20-stündigen Ruhezeit der Spinnmasse zeigten, dass eine Ruhephase von 20 Stunden durch das Nachlösen ungelöster Bestandteile Vorteile bietet gegenüber dem Direktverspinnen. Ein eventuell vorliegender Vitaminabbau über die Ruhezeit (bei 80°C) konnte nicht durch Detektion eines deutlichen Vitaminverlustes festgestellt werden (Tabelle 4 und 5).

**Tabelle 4:** Versuchsparameter und Vitamingehalte der produzierten Stapelfasern.

Versuchsnummer	Verspinnen der Lösung nach:	Vitamin-Additiv	lipophiler Träger	Vitamingehalt %	Titer [dtex]
2111.1	2 h	DL-Tocopherol	RT 27	6,1	1,8
2111.2	20 h	DL-Tocopherol	RT 27	6,1	2,3
2112.1	2 h	Vitamin-E-Acetat	RT 27	6,1	2,3
2112.2	20 h	Vitamin-E-Acetat	RT 27	6,1	2,3
2113.1	2 h	DL-Tocopherol	RT 27	5,75	1,7
2113.2	20 h	DL-Tocopherol	RT 27	5,75	1,9
2114.1	2 h	10% Retinol in Sojabohnenöl	Sojabohnenöl	1,8	2,6
2114.2	20 h	10% Retinol in Sojabohnenöl	Sojabohnenöl	1,8	2,6
2116.1	2 h	Vitamin-E-Palmitat	RT 27	5,75	2,4
2116.2	20 h	Vitamin-E-Palmitat	RT 27	5,75	2,4

**Tabelle 5:** Textilphysikalische Werte der Stapelfasern.

Versuchs- nummer	Viskosität Pas	Feinheit dtex	Reißkr. cN	Dehnung %	Feinheitsbez. Trockenreißkraft cN/tex	Feinheitsbez. Schl.reißkraft cN/tex
2111.1	8316	1,7	4,1	10,5	23,8	8,5
2111.2		2,1	5,6	12,0	26,5	8,7
2112.1	6234	2,0	4,6	9,6	22,5	8,0
2112.2		2,0	4,6	9,4	22,3	7,4
2113.1	6914	1,8	4,7	9,9	26,1	8,0
2113.2		1,8	4,7	9,0	26,2	7,7
2114.1	7383	2,4	5,9	11,1	24,8	7,7
2114.2		2,4	6,3	13,5	25,9	8,5
2116.1	8170	2,2	5,8	14,4	26,3	7,2
2116.2		2,2	5,6	13,2	25,5	7,4

#### 2.4.3. Versuch im kleintechnischem Maßstab

Nach erfolgreich absolvierten Laborversuchen zur Optimierung der Spinnlösungsherstellung wurde ein kleintechnischer Spinnversuch zur Ermittlung der Prozesseinstellungen und der Langzeitstabilität der Einstellung gefahren. Ziel war es außerdem für Versuche zur textilen Verarbeitung ca. 20 kg Faser bereitzustellen. Der Versuch wurde über 3 Arbeitstage gefahren. Als lipophiler Träger wurde ein handelsübliches Olivenöl aus dem Lebensmittelhandel verwendet. Zusätzlich wurde Tocopherol zu diesem lipophilen Träger dosiert. In Tabelle 6 sind die Textilphysikalischen Parameter des Versuches aufgelistet. Die Faser war aus 57,5 % Cellulose, 17,3 % Olivenöl, 5,7 % Vitamin E und 19,5 % feste Additive zusammengesetzt.

**Tabelle 6:** Textilphysikalische Werte des Versuches.

Versuch	Feinheit dtex	Reißkr. cN	Dehnung %	Feinheitsbez. Trockenreißkraft cN/tex	Feinheitsbez. Schl.reißkraft cN/tex
2299	1,7	3,9	15,2	23,5	8,6

Der Spinnverlauf auf der kleintechnischen Spinnanlage wurde mit „gut“ bewertet.

## 2.5. Chemisch-physikalische Charakterisierung der Cellulosefasern

Die Wirkstoffzusätze und Restlösemittel wurden nach Extraktion der Analyten ermittelt. Dafür wurden 3 verschiedene Ansätze entwickelt.

1. Statische Extraktion mit Lösemittel im Ultraschall
2. Dynamische Extraktion am Soxhlet
3. *Accelerated Solvent Extraction (ASE)*

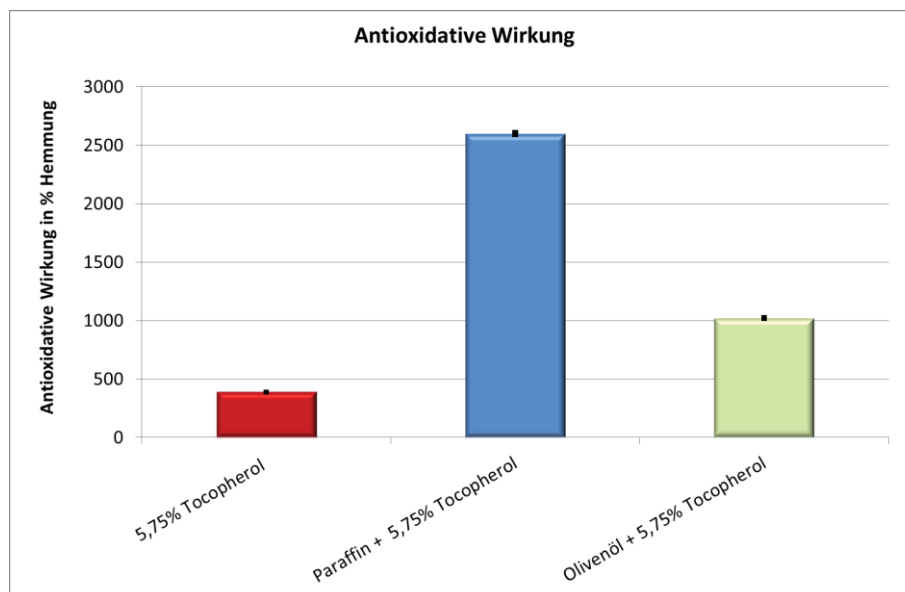
Die dynamischen Extraktionsverfahren Nr. 2 und 3 sind besonders für die vollständige Detektion von Analyten aus Fasern geeignet. Die Ermittlung des Rest-NMMO-Gehaltes erfolgte mittels des *Accelerated Solvent Extraction*-Verfahrens, bei dem Wasser als Lösungsmittel diente. Die Lösungsmittelkonzentration des NMMO wurde mit dem HPLC-MS-Verfahren detektiert. Der erhaltene Arbeitsbereich befand sich zwischen 10 und 1000 mg/kg und die Bestimmungsgrenze lag bei 1 mg/kg. In Fasern mit 5,7 % DL-Tocopherol wurden Restgehalte an N-Methyl-Morpholin-N-Oxid (NMMO) und Methyldmorpholin (NMM) von 470 ppm NMMO und 220 ppm NMM ermittelt. Unkritische Lösungsmittelrückstände liegen unter 100 ppm und können durch Veränderung der Waschungen erreicht werden.

## 2.6. Biologische Bewertung der Cellulosefasern

### 2.6.1. Antioxidative Kapazität von Cellulosefasern

#### 2.6.1.1 Ermittlung des idealen lipophilen Trägerstoffes

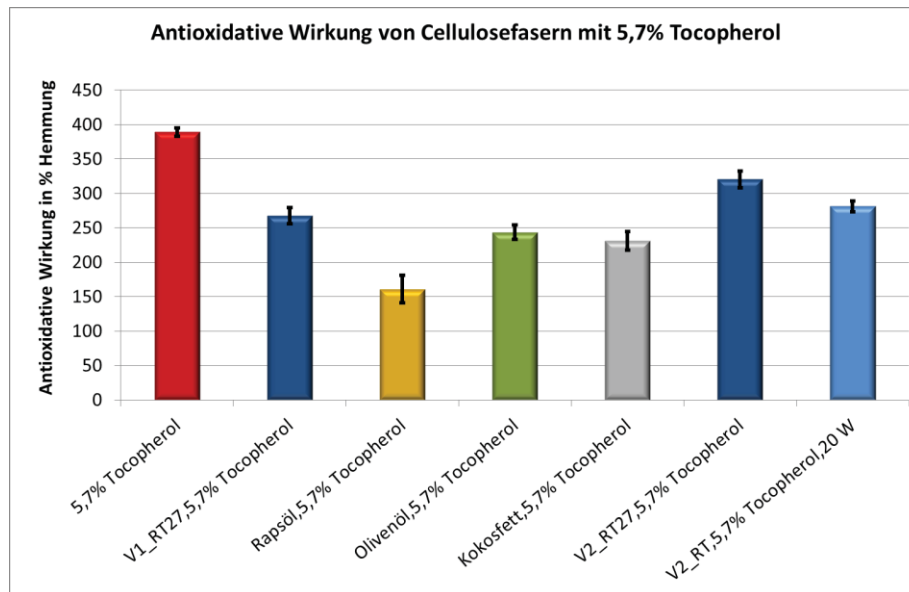
Mittels des ALCERU-Verfahrens wurden Cellulosefasern mit einem Anteil von 5,7% Tocopherol hergestellt. Zur Identifikation des optimalen Trägerstoffes wurden die Substanzen Paraffin RT27, Olivenöl, Kokosfett und Rapsöl eingearbeitet. Die Vitaminfasern wurden anhand der Bestimmung der antioxidativen Wirkung charakterisiert. Dafür wurden ethanolische Extrakte der Fasern hergestellt und mit Hilfe des optimierten TEAC-Tests nach Re *et al.* 1999 untersucht. In einem Vorversuch wurde der Einfluss von zwei Trägermaterialien, vor der Verarbeitung zu Cellulosefasern, auf die antioxidative Wirkung des DL-Tocopherols ermittelt. So verstärkt das pure Trägermaterial Paraffin die antioxidative Wirkung des reinen Vitamins um das 6,7 fache (Abbildung 7). Aufgrund der antioxidativen Wirkung des Olivenöls erhöht sich die antioxidative Wirkung eines 17,2%igen Olivenölextraktes mit einem 5,7% Vitamin E- Anteil um das 2,6 fache im Vergleich zur antioxidativen Wirksamkeit einer 5,7 %igen DL-Tocopherol-Lösung.



**Abbildung 7:** Vergleich der antioxidativen Wirksamkeit in % Hemmung der puren Trägerstoffe Paraffin und Olivenöl mit 5,7% Vitamin E-Anteil, sowie des reinen Vitamin E in 5,7 %iger Konzentration.

Unter Berücksichtigung der Resultate, dass die Cellulosefasern mit dem Trägerstoff Paraffin RT27 bzw. dem Olivenöl mit einem 5,7% Vitamin E-Anteil geringere antioxidative Wirksamkeiten aufwiesen als die Extrakte der puren Substanzen, erfolgte die Ermittlung des effektivsten Trägermaterials anhand der antioxidativen Wirkung der Cellulosefaser-Endprodukte. Wichtig bei der Ermittlung des geeigneten Trägerstoffes sind zudem die Kriterien zur Verspinnbarkeit der Cellulosemischungen. Der Vergleich der antioxidativen Wirksamkeit von Cellulosefasern mit verschiedenen Trägerstoffen zeigte die höchste

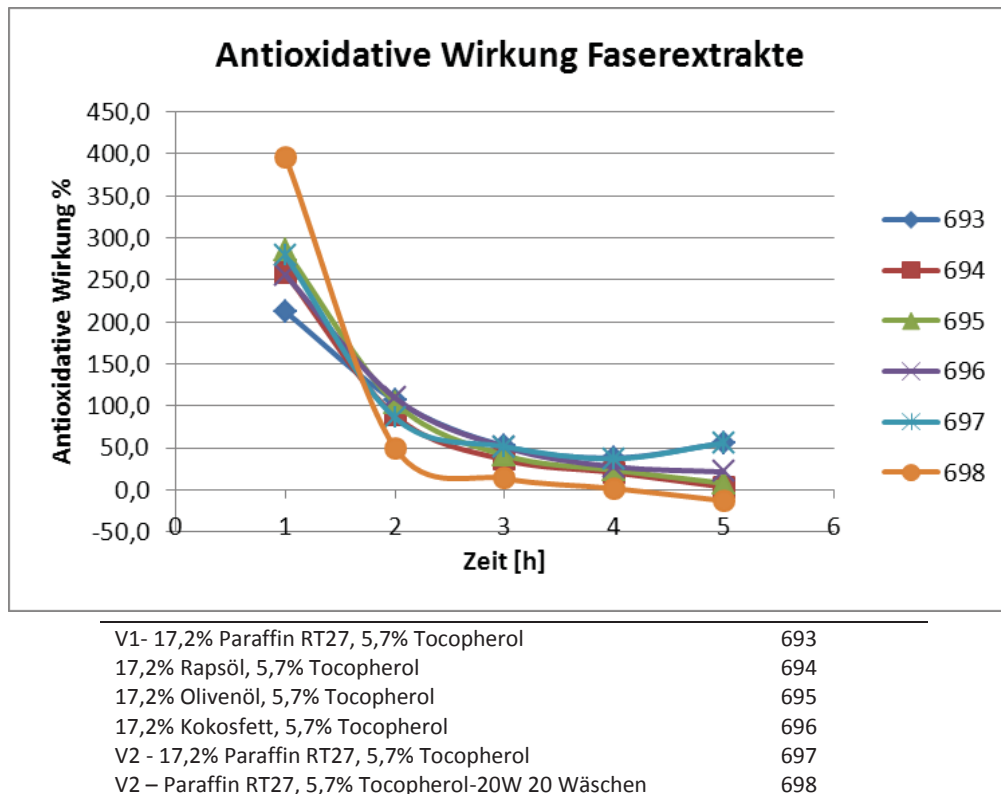
antioxidative Wirksamkeit mit dem Trägerstoff Paraffin RT 27 und 5,7 % DL-Tocopherol (Abbildung 8). Die geringste antioxidative Wirkung lag in der Kombination der Trägersubstanz Rapsöl mit 5,7 % DL-Tocopherol vor.



**Abbildung 8:** Antioxidative Wirksamkeit in % Hemmung von Cellulosefasern mit verschiedenen Trägerstoffen und einem 5,7 %igem DL-Tocopherol Anteil.

#### 2.6.1.2 Antioxidative Wirkung von Cellulosefasern mit verschiedenen Vitaminen

Zur Identifizierung des idealen Vitamins für die funktionelle Ausrüstung von Cellulosefasern mit dermatokosmetischen Eigenschaften, wurden Cellulosefasern mit unterschiedlichen Vitaminen ausgerüstet. Ausgewählt wurden die Vitamine DL- $\alpha$ -Tocopherol, Vitamin E-Acetat, Retinol und Vitamin A-Palmitat. Als Trägersubstanz wurde das Paraffin RT 27 mit der effektivsten Integration von Vitaminen in Cellulosefasern verwendet. Die Ermittlung des im Herstellungsprozess am stabilsten und nach der Verarbeitung am wirksamsten Vitamins erfolgte über die Bestimmung der antioxidativen Wirkung der Cellulosefasern. Es wurden ethanolische Extrakte der Fasern hergestellt, indem 1 g Faser mit 5 ml Ethanol (HPLC grade) versetzt und für 1 h bei Raumtemperatur geschüttelt wurde. Der Extrakt wurde über Gaze für 5 min bei 1000 U/min zentrifugiert und für die Messung verwendet. Die optimalen Extraktionsbedingungen wurden anhand von Vorversuchen definiert. Die Vorversuche umfassten u.a. die Testung an der Pufferlösung PBS, einer Schweißlösung und Ethanol zur Bestimmung des am besten geeigneten Extraktionsmittels. Die Resultate zeigten, dass Ethanol das effektivste Extraktionsmittel ist. Anschließend erfolgten Untersuchungen zur Optimierung der Extraktionszeit. Dabei wurde deutlich, dass nach einer Extraktionszeit von 1 h bereits die höchste Konzentration an antioxidativ wirksamen Bestandteilen extrahiert wird (Abbildung 9).

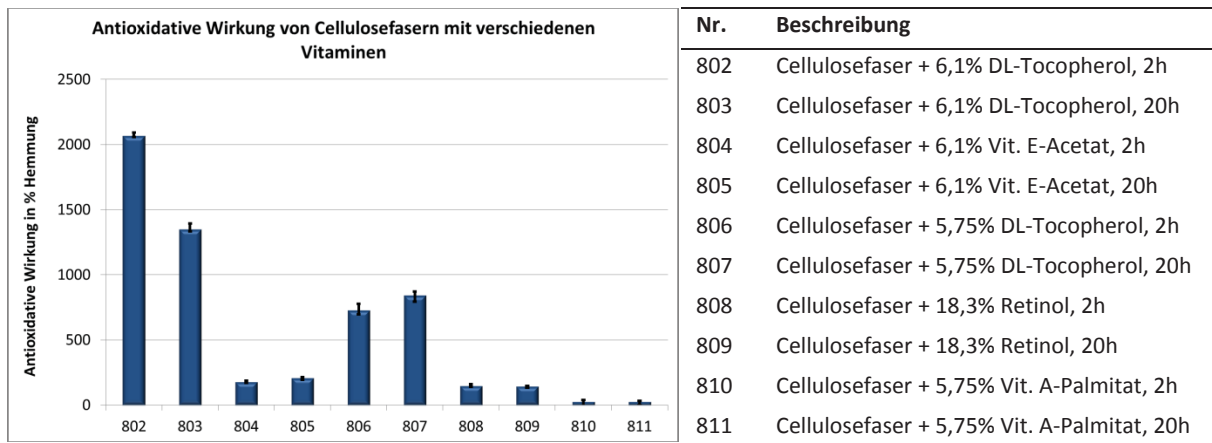


**Abbildung 9:** Antioxidative Wirkung der Faserextrakte in Abhängigkeit von der Extraktionszeit. Nach 1 h Extraktion liegt die höchste antioxidative Wirkung der Faserextrakt vor.

Entsprechend dieser Resultaten erfolgte die Extraktion der in den Cellulosefasern inkorporierten Vitaminen mit dem Extraktionsmittel Ethanol für den Extraktionszeitraum von 1 h. Anhand der antioxidativen Wirksamkeitsbestimmung konnte ermittelt werden, dass Cellulosefasern mit integriertem Vitamin A oder mit den Derivaten der Vitamine E und A nur sehr schwache Wirksamkeiten aufwiesen (Probennummer: 804; 805; 808; 809; 810 und 811 (Abbildung 10)). Cellulosefasern mit 6,1% des Vitamin E (DL-Tocopherol) besaßen die höchste antioxidative Aktivität (Probennummer 802: 803). Innerhalb dieser Versuchsreihe konnten parallel zur Bestimmung des idealen Vitamins auch Herstellungsparameter optimiert werden.

So wurden die Cellulosefasern mit den verschiedenen Vitaminen in einem 2h-Ansatz und in einem 20h-Ansatz hergestellt. Die 2h Ansätze mit dem Vitamin E (DL-Tocopherol) zeigten dabei die höchste antioxidative Wirksamkeit. Im 20h Ansatz mit diesem Vitamin war die antioxidative Wirksamkeit der Faser dezimiert. Bei der Vergleichscharge mit einem geringeren Vitamin E-Anteil ist die antioxidative Wirkung vermindert. Auch stellen die Ergebnisse dar, dass bei den weniger aktiven Vitaminen die Quellzeiten der Celluloselösung einen immer geringeren bis gar keinen Einfluss auf die antioxidative Wirksamkeit der Fasern ausüben.





**Abbildung 10:** Antioxidative Wirkung von Cellulosefasern mit unterschiedlichen Vitaminen im Trägerstoff Paraffin RT 27. Angegeben ist die Hemmung der radikalischen ABTS-Reaktion (Re et al., 1999) im Vergleich zur Kontrolle ohne Antioxidans.

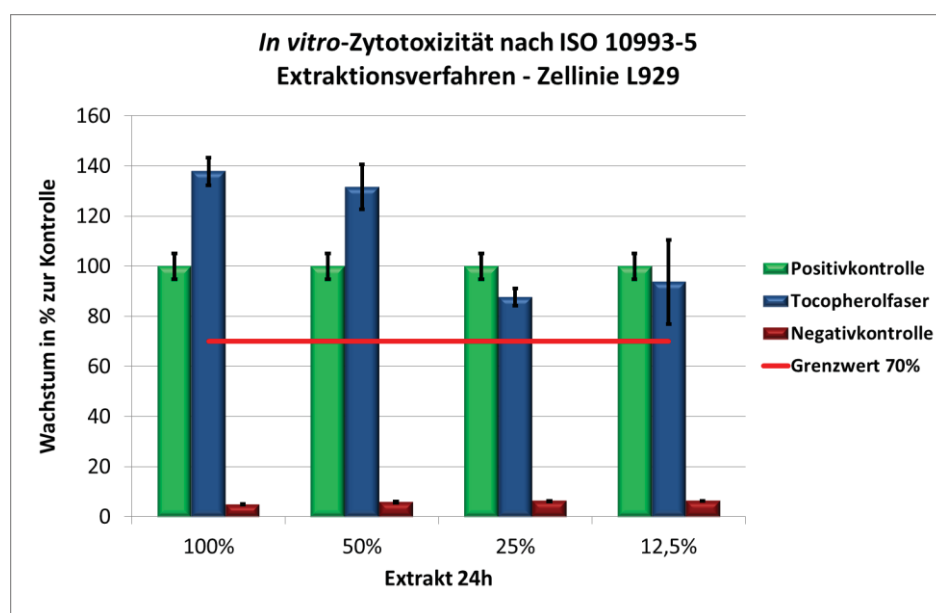
### 2.6.2. In vitro-Zytotoxizität

Der Einsatz von DL-Tocopherol-Cellulosefasern im textilen Endprodukt kann nur erfolgen, wenn das Material keine toxischen oder hautsensibilisierenden Eigenschaften aufweist. Erste Anhaltspunkte bezüglich der Biokompatibilität geben *in vitro*-Testungen in Anlehnung an die Medizinproduktenorm EN ISO 10993-5 „Biologische Beurteilung von Medizinprodukten – Teil 5: Prüfung auf *in vitro*-Zytotoxizität“. Diese Prüfung bietet aufgrund der Testung der Zelltoxizität bei definierter Kontaktzeit eine gute Aussage zur generellen Bioverträglichkeit. Gleichzeitig können mittels der Testungen zellproliferationsfördernde Reaktionen der Materialien bestimmt werden. Aufgrund der Integration von dermatologisch aktiven Wirkstoffen in Form von Vitaminen in die Faser, wäre ein solcher, -wachstumsfördernder Effekt auf die Zellen denkbar.

Die Testungen erfolgten mittels des Extraktionsprüfverfahrens gegenüber der normkonformen Mausfibroblasten-Zelllinie L929 und einer humanen HaCaT-Keratinocyten Zelllinie. Die Zellen wurden dafür mit RPMI 1640-Medium bzw. mit DMEM high Glucose-Medium mit 10 % fötalem Kälberserum (fetal calf serum, FCS) im CO<sub>2</sub>-Brutschrank (HERACell, Thermo Scientific GmbH) bei 37°C mit 5% CO<sub>2</sub> kultiviert, alle 48 - 72h 1:6 geteilt und in eine neue Zellkulturflasche passagiert. Die Herstellung der Extrakte erfolgte in Anlehnung an die Norm DIN EN ISO 10993-12 „Biologische Beurteilung von Medizinprodukten - Teil 12: Probenvorbereitung und Referenzmaterialien“. Zu 1g Material wurden 5ml Zellkulturmedium mit Serum gegeben und für 24 h bei 37 °C und 180 U/min geschüttelt (MaxQ 4000, Thermo Scientific GmbH). Eine Extraktionsdauer von 24 h wurde gewählt, da von einer maximalen Tragedauer des textilen Endproduktes ausgegangen wird. Nach Gewinnung der Extrakte durch Zentrifugieren für 5 min bei 5000 U/min (Multifuge XR1, Thermo Scientific GmbH) wurden diese zu definierten Konzentrationen mit Zellkulturmedium verdünnt. Anschließend erfolgte die Überführung der Extraktverdünnungsreihe in eine 96-Well-Mikrotiterplatte zu einer 24 h-adhärenenten Zellkultur mit einer Zellzahl von  $1 \cdot 10^4$  Zellen pro Well. Für 24 h wurde die Zellkultur mit den Proben in Kontakt gebracht. Die Vitalität der Zellen wurde mit Hilfe des Proliferationsassays XTT ermittelt. Die Berechnung der Zytotoxizität erfolgte durch Vergleich des Wachstums der, mit den Probenextrakten inkubierten Zellen, mit Kontrollzellen ohne Extraktzusatz.

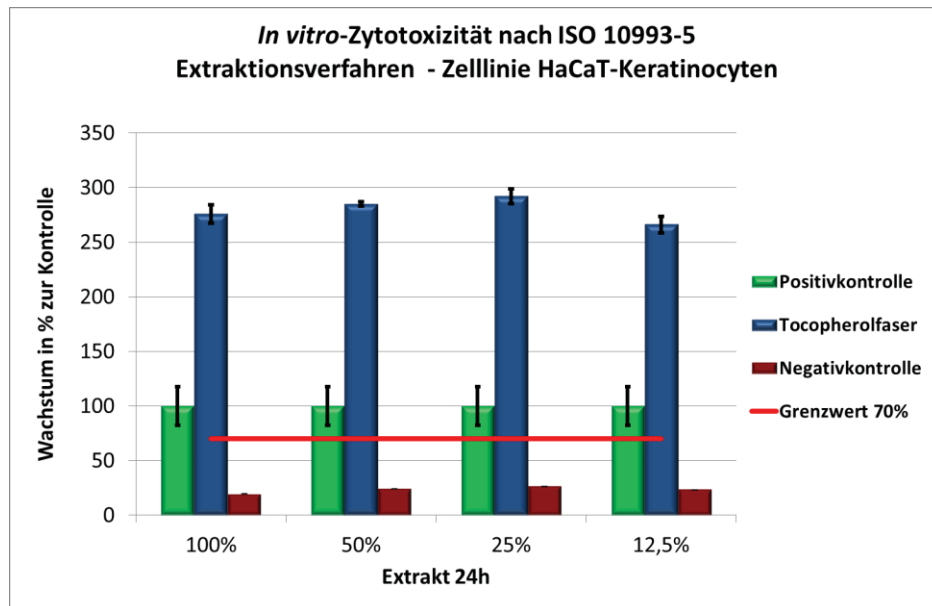
Die Resultate liefern erste notwendige Bewertungskriterien für die Applikation im Textilbereich und sind wichtig für eine zukünftige Öko-Tex®-Standard 100 Zulassung. Des Weiteren bestätigen zellproliferationsfördernde Resultate die biologische Aktivität der Cellulosefasern mit integriertem Vitamin. Die Untersuchungen erfolgten an einer Cellulosefaser mit einem 5,7%igem Anteil an DL-Tocopherol im Trägerstoff Paraffin RT27. Die gewonnenen Extrakte wurden mit der Mausfibroblasten-Zelllinie L929 und der humanen Hautzelllinie HaCaT-Keratinozyten in Kontakt gebracht. Wie in Abbildung 11 ersichtlich, konnte bei dem 100%igem Extrakt eine Zellproliferation der Zelllinie L929 detektiert werden. Dieser Effekt sinkt in Folge der Extraktverdünnung mit Zellkulturmedium. Alle Extraktkonzentrationen weisen keine Zellschädigungen auf.

Die Untersuchung der *in vitro*-Zytotoxizität an der humanen Hautzelllinie HaCaT-Keratinozyten zeigte einen noch stärkeren zellproliferativen Effekt.



**Abbildung 11:** *In vitro*-Zytotoxizitätsuntersuchung an der Mausfibroblasten Zelllinie-L929 einer DL-Tocopherol-Cellulosefaser in % Wachstum zur Kontrolle (Negativkontrolle). Als Positivkontrolle diente Na-dodecylsulfat.

Nach Inkubation der Zellkultur mit dem 100%igem Extrakt, als auch mit den Extraktverdünnungen von 50 %, 25 % und 12,5 % zeigte die Zellkultur ein, um das 150-fache gesteigerte Zellwachstum (Abbildung 12). Es ist davon auszugehen, dass die Zellproliferation durch das extrahierte Vitamin E hervorgerufen wird. Der im Vergleich zur Mausfibroblasten-Zelllinie sehr erhöhte proliferative Effekt gegenüber der humanen Hautzelllinie HaCaT-Keratinozyten beruht auf der Funktion des Vitamin E am Aufbau von Hautzellen und deren Lipidmembranen.



**Abbildung 12:** *In vitro*-Zytotoxizitätsuntersuchung einer DL-Tocopherol-Cellulosefaser an der humanen Hautzelllinie HaCaT-Keratinocyten in % Wachstum zur Kontrolle (Negativkontrolle). Als Positivkontrolle wurde Na-dodecylsulfat verwendet.

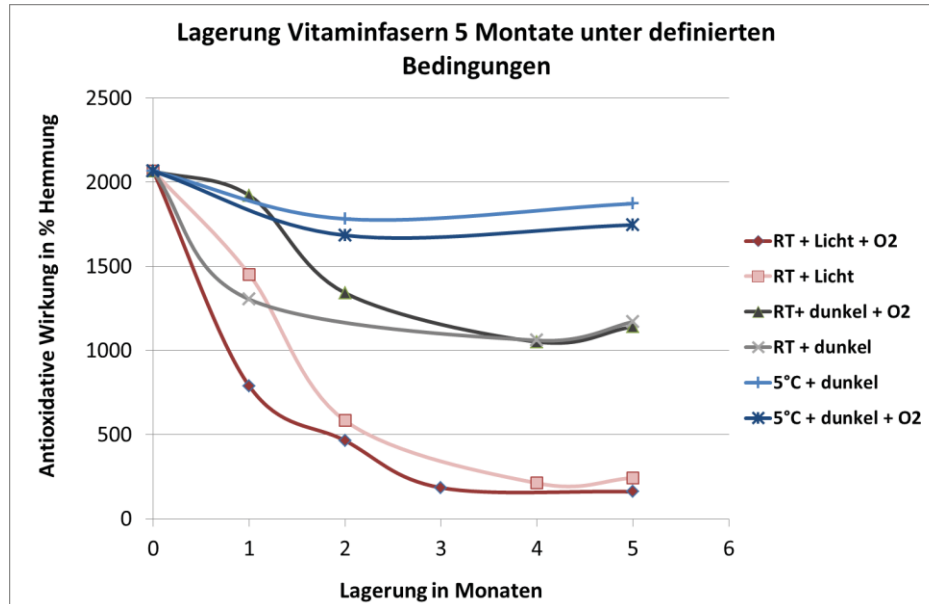
## 2.7. Ermittlung der Lagerstabilität optimierter Cellulosefasern

Die Bewertung der Lagerstabilität erfolgte anhand einer Cellulosefaser mit dem Trägerstoff Paraffin 27 und dem dermatologischen Wirkstoff Vitamin E (DL-Tocopherol) nach folgenden Parametern:

- a) Lagerung bei Raumtemperatur, Lichteinwirkung und Sauerstoffeinfluss
- b) Lagerung bei Raumtemperatur, Lichteinwirkung und Ausschluss von Sauerstoff
- c) Lagerung bei Raumtemperatur, Ausschluss von Licht mit Sauerstoffeinfluss
- d) Lagerung bei Raumtemperatur und unter Ausschluss von Licht und Sauerstoff
- e) Lagerung bei 5°C, unter Ausschluss von Licht mit Sauerstoffeinfluss
- f) Lagerung bei 5°C ohne Licht- und Sauerstoffeinfluss

Diese Bewertungsparameter wurden anhand einer Cellulosefaser mit einem 6,2%igem DL-Tocopherol-Anteil und in Zeitabständen von 1 Monat über eine Laufzeit von 6 Monaten untersucht. Die Resultate zeigen, dass die effektivste Lagerung bei 5°C erfolgen sollte. Die Lagerung bei Raumtemperatur wies relativ hohe Wirksamkeitsabfälle auf. In Kombination mit der Lagerungstemperatur wird deutlich, dass Licht einen erheblichen Einfluss auf die Lagerstabilität ausübt. Dagegen legen die Ergebnisse dar, dass Sauerstoff die Lagerstabilität nur gering beeinflusst (Abbildung 13).

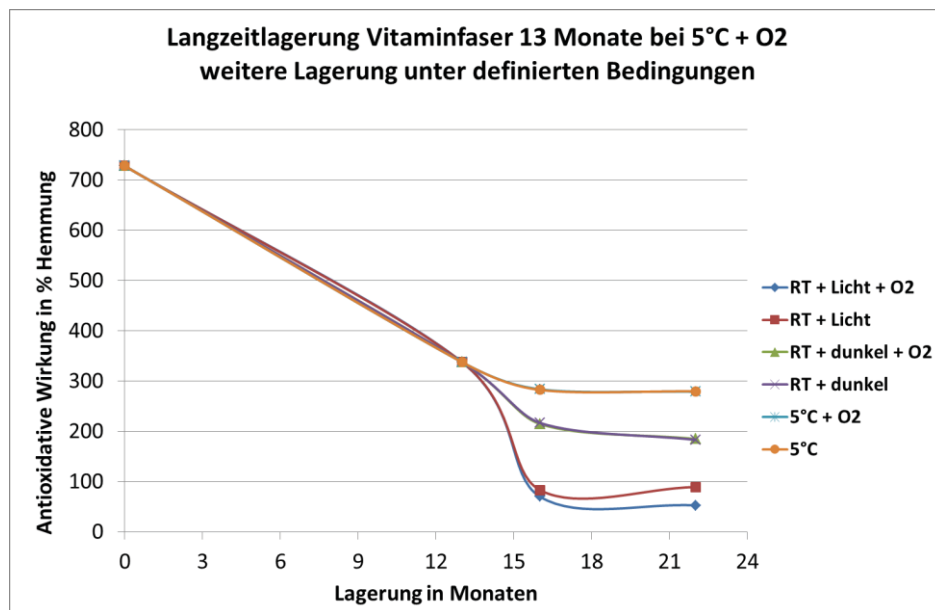
Des Weiteren erfolgte die Lagerung einer Cellulosefaser mit einem 5,7%igem DL-Tocopherol-Anteil für 13 Monate bei einer Temperatur von 5°C unter Licht- und Sauerstoffeinfluss.



**Abbildung 13:** Lagerversuch der Vitaminfasern. Dargestellt ist die antioxidative Wirkung der Cellulosefaserextrakte nach Lagerung unter Einfluss von Temperatur, Licht und Sauerstoff im zeitlichen Verlauf.

Nach diesen 13 Monaten wurde die Faser nach den vorhergehend beschriebenen Parametern auf deren Lagerstabilität untersucht. Die Ergebnisse zeigten, dass nach einer 13-monatigen Lagerung bei 5°C unter Licht- und Sauerstoffeinfluss die antioxidative Wirkung um 55% sank. Die anschließende Lagerung unter definierten Bedingungen bestätigte die

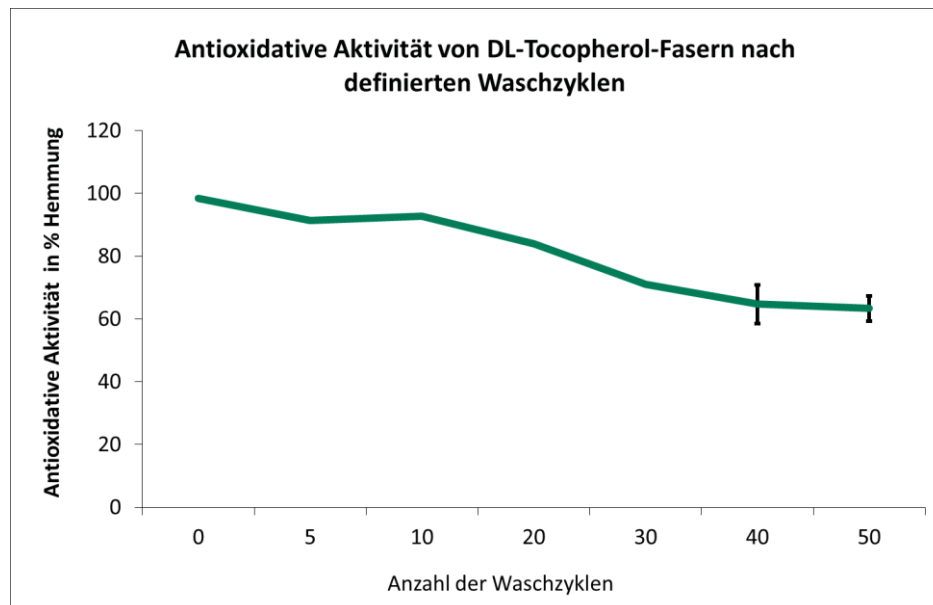
Annahme, dass die antioxidative Wirkung bei Raumtemperatur schneller abnimmt als bei einer 5°C-Lagerung. Ebenfalls belegten die Ergebnisse eine negative Einflussnahme von Licht auf die antioxidative Aktivität und einen unwesentlichen Einfluss von Sauerstoff (Abbildung 14).



**Abbildung 14:** Lagerversuch einer zuvor 13 Monate bei 5°C gelagerten Vitaminfaser. Dargestellt ist die antioxidative Wirkung der Cellulosefaserextrakte nach Lagerung unter Einfluss von Temperatur, Licht und Sauerstoff im zeitlichen Verlauf.

## 2.8. Nachweis der Waschbeständigkeit der Cellulosefasern

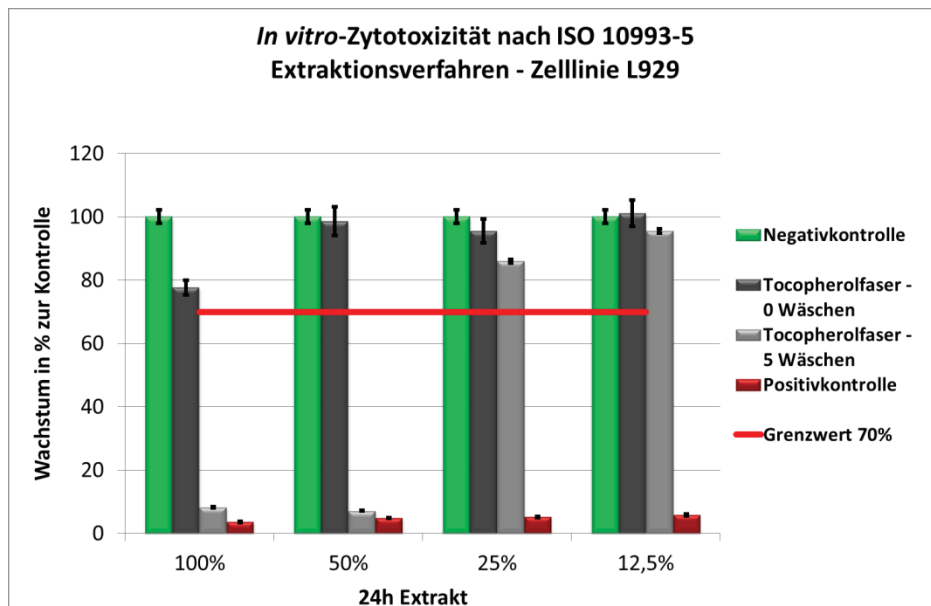
Für eine optimale Vermarktung der Vitamin-Cellulosefasern ist eine ausgezeichnete Waschbeständigkeit essenziell. Aus diesem Grund erfolgte die Herstellung einer Cellulosefaser mit dem optimalen Vitamin DL-Tocopherol-Gehalt von 6,1% im Trägerstoff Paraffin 27. Diese Faser wurde definierten Waschzyklen unterzogen. Anschließend erfolgte die Detektion der dermatologischen Wirksamkeit in Form des Nachweises der antioxidativen Aktivität der Faserextrakte. In Abbildung 15 ist die antioxidative Aktivität der Cellulosefaser nach 0-, 5-, 10-, 20-, 30-, 40- und 50-Wäschen dargestellt. Die Resultate zeigen, dass die Vitamin-Cellulosefaser eine Waschbeständigkeit von über 10 Waschzyklen aufweist. Mit Erhöhung der Wäschen sank die antioxidative Wirkung kontinuierlich bis auf 61% der Ausgangsaktivität. Anhand der Ergebnisse konnte eine sehr gute Waschbeständigkeit der Vitamin-Cellulosefaser über 50 Wäschen nachgewiesen werden. Im Textilbereich ist die Testung von 50 Waschzyklen zur Ermittlung der Waschbeständigkeit untypisch. Im Allgemeinen werden die Textilien anhand einer geringeren Anzahl an Wäschen beurteilt. Entsprechend positiv werden sich die Resultate auf die Vermarktung der dermatologisch aktiven Cellulosefaser auswirken.



**Abbildung 15:** Antioxidative Aktivität einer Cellulosefaser mit 6,1% DL-Tocopherol nach definierten Waschzyklen.

Zur besseren Charakterisierung der Cellulosefasern nach definierten Waschzyklen erfolgte parallel die Ermittlung der *in vitro*-Zytotoxizität, wie sie unter Punkt 2.6.2 beschrieben wurde. Die Testungen der ungewaschenen Vitamin-Cellulosefaser und der Cellulosefaser nach 5 Waschzyklen wurden an der normkonformen Mausfibroblasten-Zelllinie L929 durchgeführt. Wie in Abbildung 16 ersichtlich, wies die ungewaschene Vitamin-Cellulosefaser keine Zytotoxizität auf. Im Vergleich dazu wurde bei der gewaschenen Cellulosefaser eine starke toxische Wirkung auf die Zellen detektiert. Diese Zellschädigungen werden sowohl vom 100%igen Extrakt als auch von der 50%igen Extraktverdünnung hervorgerufen. Ab einer Extraktkonzentration von 25% lag keine Toxizität mehr vor. Eine mögliche Ursache der toxischen Wirkung der gewaschenen Faser kann darin bestehen, dass Rückstände des verwendeten Waschmittels an der Cellulosefaser haften geblieben bzw.

diese Bestandteile während der Extraktion in das Extraktionsmedium übergegangen sind und somit entsprechend toxische Effekte hervorriefen.



**Abbildung 16:** *In vitro*-Zytotoxizität in % zur Kontrolle (Negativkontrolle) von einer Cellulosefaser mit integriertem DL-Tocopherol (6,1%) ungewaschen (0Wäschen) und nach 5 Waschzyklen (5Wäschen). Als Positivkontrolle diente die stark zytotoxische Substanz Na-dodecylsulfat.

## 2.9. Herstellung und Charakterisierung von Garnmaterial mit funktionalisierter Cellulosefaser

Abschließend zum Entwicklungsverlauf der Cellulosestapelfasern mit aktivem integriertem dermatologischem Wirkstoff (Vitamin E) wurden diese, im kleintechnischen Maßstab unter optimalen Bedingungen produzierten Fasern zu einem Mischgarn verarbeitet. Die Herstellung erfolgte durch das STFI Chemnitz. Aufgrund der gegenüber normaler, unadditiver Lyocellfasern veränderten Oberflächeneigenschaften der Fasern unterscheidet sich die Garnerzeugung grundsätzlich von der Verarbeitung normaler Lyocellfasern (Tabelle 7). Folgende Einschätzung zum Verarbeitungsverhalten konnten getroffen werden:

- schlechtes Auflöseverhalten an der Karde (hohe Faser/Faser-Haftung)
- ungleichmäßige Vliesbildung nach dem Abnehmer der Karde
- Verbesserung des Vliesbildes erst bei einem Zumischungsanteil von 50 % undotierter Standardfaser
- Verzugsprobleme in allen Streckwerken der Verarbeitungskette
- vermehrte Fadenbrüche durch Verklebungen
- ungenügende Prozesssicherheit

**Tabelle 7:** Parameter bei der textilen Verarbeitung der Stapelfaser zu einem Mischgarn.

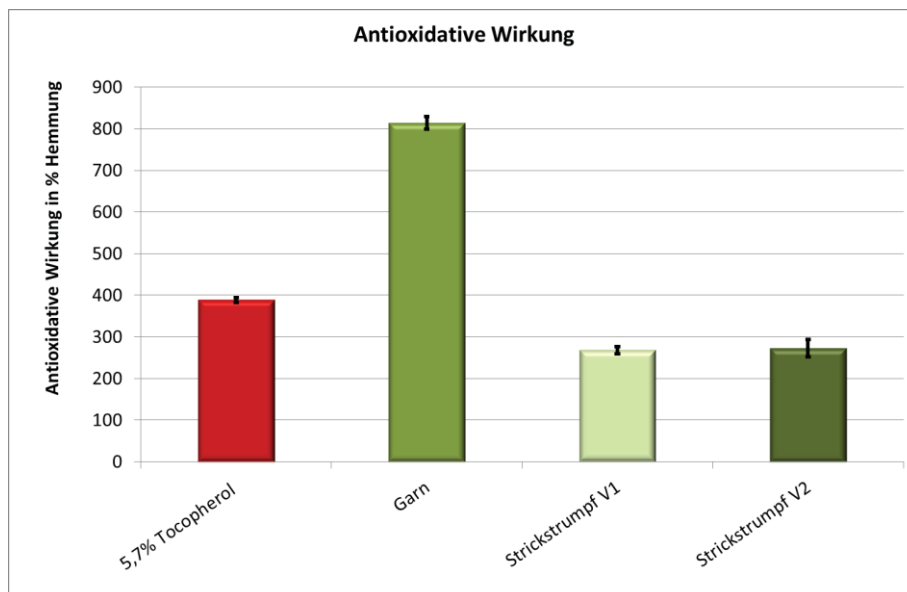
Qualitätsparameter Spinnerei								
Material			CLY V2299 17% Olivenöl					
			17.06.2013					
			50/50 CLY V2299 1,7/38 /CLY Lenzing Tencel 1,7/38					
			Kardenband	Streckenband	Flyerlunte		Ringgarn	
Prüfauftrag-Nr.			T563-13					
Datum			11.06.13	13.06.13	17.06.2013		20.06.2013	
Versuch			Chefa II	RSB 951	hinten	vorn	Test Spinntester	Hoftex
Nennfeinheit	tex (Nm)	DIN 53830-3	2222 (0,45)	4000 (0,25)	500 (2,0)	500 (2,0)	20 (50)	17 (60)
Mittelwert	ktex		2143	3831	479	499		
	Nm		0,47	0,26	2,09	2,00		
Variationskoeffizient	%		4,24	3,64	2,02	1,66		
Ungleichmäßigkeit	%	ISO 16549						
CV <sub>m</sub>			8,02	5,65	6,76	6,43	18,99	17,1

Als Fazit der Versuche zur Garnherstellung ist festzustellen, dass die Cellulosestapelfaser schlechte Verarbeitungseigenschaften aufweist und nicht unter den Bedingungen einer textilen Produktion zu verarbeiten ist. Es muss eine geeignete Avivage verwendet werden um die Laufeigenschaften auf den Maschinen der Garnerzeugung zu verbessern.

Dennoch konnte das, unter suboptimalen Bedingungen hergestellte, Mischgarn zu einem ersten textilen Endprodukt in Form eines Strumpfes verarbeitet werden. Beide Materialien wurden auf ihre dermatologische Wirksamkeit und auf zytotoxische Eigenschaften untersucht. Das produzierte Mischgarn besteht aus 50 % Tencel Lenzing-Faser und 50 % der Vitamin-Cellulosefaser mit einem DL-Tocopherol-Anteil von 5,7 % und dem Trägerstoff Olivenöl. Die Strickstrümpfe wurden im Außenmaterial aus 1xNm Baumwolle und im

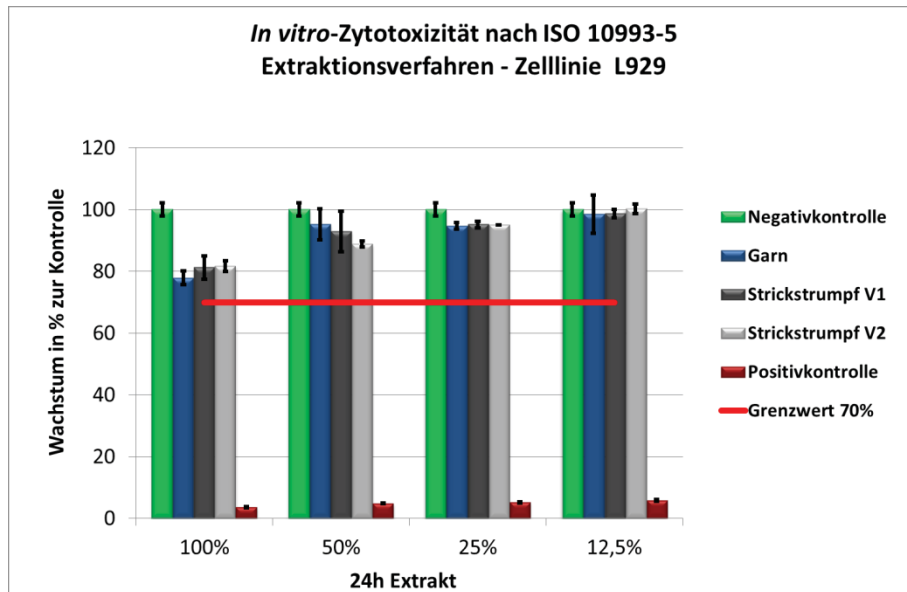


Innenmaterial aus 1xNm 60/1 Olivenölgarn mit 50 % Vitamin-Cellulosefaser und 1x Lycra 330 dtex hergestellt. Wichtig für die Zielstellung des Projektes war der Erhalt der dermatologischen Wirksamkeit des inkorporierten DL-Tocopherols nach der Verarbeitung zu Garnen und textilen Endprodukten. Die Variation der Strümpfe bestand darin, dass die Variante 2 bei 140°C geformt wurde, während die Variante 1 ungeformt untersucht wurde. Das Garnmaterial, welches auch zur Herstellung der Strümpfe verwendet wurde, wies eine antioxidative Hemmung von über 800 % auf (Abbildung 17). Beide Strumpfmaterialien zeigten eine antioxidative Wirksamkeit von über 250 % Hemmung. Unter Berücksichtigung, dass in dem Strumpfmaterial eine 4fach geringere Konzentration an DL-Tocopherol-Cellulosefaser vorliegt, konnten keine antioxidativen Aktivitätsverluste durch den Weiterverarbeitungsschritt detektiert werden. Auch liegt kein antioxidativer Wirksamkeitsverlust durch den Verarbeitungsschritt der Umformung bei 140°C vor.



**Abbildung 17:** Antioxidative Wirksamkeit in % Hemmung der, zu Garnen und Strümpfen verarbeiteten, Vitamin-Cellulosefaser.

Neben der nachgewiesenen stabilen Integration des dermatologischen Wirkstoffes DL-Tocopherol ist die Bestimmung der Biokompatibilität der verarbeiteten Vitamin-Cellulosefaser von großer Wichtigkeit. Dementsprechend erfolgten Untersuchungen zur *in vitro*-Zytotoxizität nach der Medizinprodukte Norm 10993-5 wie unter Punkt 2.6.2 beschrieben. Sowohl das Garn als auch die beiden Varianten des Strickstrumpfes wiesen keine zytotoxischen Eigenschaften gegenüber der Mausfibroblasten-Zelllinie L929 auf (Abbildung 18).



**Abbildung 18:** Bestimmung der *in vitro*-Zytotoxizität von Garn und Strumpfmaterail mit einer Vitamin-Cellulosefaser. Die Berechnung der Zytotoxizität erfolgte in % Wachstum zur Kontrolle (Negativkontrolle). Als Positivkontrolle wurde die Substanz Na-dodecylsulfat eingesetzt.

Aufgrund dieser umfassend positiven Resultate ist die Markteinführung der DL-Tocopherol-Cellulosefaser absolut realistisch. Es ist für die Zukunft angestrebt die Öko-Tex®-Standard 100 Zulassung zu erhalten, da diese Zulassung einen sehr positiven Effekt auf die Vermarktung der Vitamin-Faser ausüben würde.

### 3. Bewertung der erzielten Ergebnisse

Ziel des Forschungsvorhabens war die Modifizierung des ALCERU-Verfahrens zur Herstellung von Cellulosefasern mit dermatokosmetischen Eigenschaften. Insbesondere die Identifizierung eines geeigneten Wirkstoffes und die Ermittlung des idealen Trägerstoffes sollten betrachtet werden. In Folge der Herstellung waren vor allem die Kriterien einer effektiven Integrierung in die Cellulosefaser ohne Verlust der dermatokosmetischen Wirkung, die Waschbeständigkeit und die Lagerstabilität zu erfüllen.

In dem Projekt wurde zunächst anhand der umfassenden Recherche zu den geeigneten Wirkstoffen die Vitamine A und E als besonders geeignet eingestuft. Durch die Versuchsreihe der Einarbeitung der Vitamine und ihrer Derivate konnte das Vitamin E (DL-Tocopherol) als ideale Wirksubstanz mit der höchsten antioxidativen Wirksamkeit nach dem Herstellungsprozess identifiziert werden. Als geeignete Trägersubstanzen stellten sich das Olivenöl, das Rapsöl sowie das Paraffin RT 27 heraus. Im weiteren Verlauf erfolgte die Bewertung hinsichtlich der Lagerbeständigkeit der Vitamin-Cellulose-Fasern. Optimale Lagerungstemperaturen liegen im Bereich von 5°C. Aber auch Lagerungen bei RT und O<sub>2</sub> Einfluss bewirken lediglich einen Aktivitätsverlust von 55% innerhalb von 12 Monaten. Die Detektion der Waschbeständigkeit ist vordergründig wichtig für die Vermarktung der Vitamin-Cellulose-Fasern. Die Resultate zeigten eine stabile dermatokosmetische Wirksamkeit über 10 Wäschen, die mit weiterer Durchführung von Waschzyklen zwar kontinuierlich, aber nur sehr langsam abnahm.

Im weiteren Verlauf wurde die Biokompatibilität der Vitamin-Cellulosefaser mittels der *In vitro*-Zytotoxizität nach der Medizinproduktenorm 10993-5 untersucht. Die Zytotoxizität legt erste Fakten hinsichtlich der allgemeinen Toxizität der Fasern auf Zellen dar. Gleichzeitig können aber auch proliferationsfördernde Effekte detektiert werden. Für die Untersuchungen wurde sowohl die normkonforme Mausfibroblastenzelllinie L929 als auch eine spezifische Hautzelllinie, die HaCaT-Keratinocyten, verwendet.

Der Arbeitsumfang der einzelnen Arbeitspunkte war angemessen und gerechtfertigt, da ein hohes Risiko bestand die Celluloselösung nicht ausreichend für den Herstellungsprozess stabilisieren zu können. Des Weiteren bestand ein hoher Aufwand in der Optimierung des Verfahrens hinsichtlich des Erhaltes der antioxidativen Wirksamkeit des dermatokosmetisch integrierten Wirkstoffes während des Herstellungsprozesses. Auch die umfassenden Arbeiten zur Identifizierung von geeigneten Trägermaterialien rechtfertigen diesen Arbeitsaufwand. Alle Einzelschritte waren zudem immer mit dem Nachweis der antioxidativen Wirksamkeit der Versuchsreihen verbunden.

Die geplanten Ausgaben wurden wie beantragt eingehalten. Die geplanten Leistungen Dritter zur Herstellung von einem Garn, bestehend aus einem Anteil an Vitamin-Cellulose-Faser, entsprach dem angeforderten Umfang. Die geplanten Investitionen in Einzelgeräte wurden, wie beantragt, durchgeführt. Des Weiteren wurden die Ausgaben für Personal und Material im vorgesehenen Rahmen zweckgebunden ausgegeben.

#### **4. Wirtschaftliche Verwertung der Vorhabensergebnisse, aktualisierter Verwertungsplan**

Durch die Umsetzung des FuE-Zieles der Etablierung eines effektiven Verfahrens zur Herstellung von dermatokosmetisch-aktiven Cellulosefasern können erstmals Spezialfasern mit integrierten dermatokosmetisch wirksamen Bestandteilen dem Textilmarkt zugeführt werden. Es konnten bereits erste Hersteller akquiriert werden, die großes Interesse an der Verarbeitung der funktionalisierten Cellulosefasern zu textilen Endprodukten zeigen.

Es existieren einige kleine und mittelständische Unternehmen im Marktsegment der funktionalisierten Textilien, die sich durch Spezialprodukte am Markt etabliert haben. Erstes Interesse zeigte das Strumpfwerk Lindner GmbH an der Cellulose-Spezialfaser mit integrierten dermatologischen Wirkstoffen. Aber auch einige Großunternehmen, wie z.B. die Lenzing Gruppe, würden für die Vermarktung von Spezialfasern in Frage kommen.

Derzeit haben Textilien mit dermatologischen Eigenschaften noch keinen Marktanteil im Textilbereich. Vermarktungen erfolgen vor allem im Marktsegment der Kosmetika. Dennoch ist die Einführung von dermatologisch wirksamen Spezialfasern absolut realistisch, da in den letzten Jahren die Markteinführung innovativer Entwicklungen aufgrund der Wandlung der Kundenwünsche kontinuierlich wächst.

Mit der smartpolymer GmbH, steht ein erster Produzent für die Herstellung der, in dem FuE-Vorhaben entwickelten Cellulosefasern im technischen Kleinmaßstab zur Verfügung. Damit besteht die Möglichkeit potentiellen Kunden Cellulosefasern in ausreichender Menge für die Herstellung von Endprodukten zur Verfügung zu stellen. Die smartpolymer GmbH ist in der Lage die Funktionsfaser im 300 kg-Maßstab zu fertigen. Bei einem Anteil von 15% der Fasern im Gesamttextil können so ca. 2 Tonnen Gewebe mit dermatokosmetischen Eigenschaften produziert werden. Des Weiteren wird vom TITK e.V. angestrebt, die Produktions- und Vermarktungsrechte an andere Unternehmen zu übertragen. Begünstigt wird die Markteinführung durch die hervorragenden Biokompatibilitätsresultate und der nachgewiesenen antioxidativen Wirksamkeit der Fasern. So steht der Beantragung des Öko-Tex<sup>®</sup>-Standard 100 aufgrund der vorliegenden Ergebnisse nichts im Weg. Der Erhalt des Öko-Tex<sup>®</sup>-Standard 100 bedeutet einen wesentlichen Vorteil bei der Markteinführung und Akquisition von potentiellen Endproduktherstellern.

Die Forschungsergebnisse werden zunächst an die smartpolymer GmbH übertragen. Damit ist die Produktion der Fasern durch die smartpolymer GmbH bis zur Etablierung am Markt gewährleistet. Anschließend wird die Produktion durch einen Faserhersteller im großtechnischen Maßstab vollzogen.

Die Produktionskosten für die Cellulose-Vitaminfaser hinsichtlich der Herstellung von Fasern belaufen sich auf geschätzte 60 €/kg Faser. Der Bedarf an dermatokosmetisch wirksamen Fasern für die Textilindustrie wird auf ca. 1 Tonne/Jahr geschätzt. Damit ergibt sich ein prognostizierter Umsatz für die reine Faser von 60.000 €/Jahr. Die Verarbeitung der Faser zu den Textil-Endprodukten ruft weitere Umsätze hervor, die mit einem Wertschöpfungsfaktor von 8 abgeschätzt werden können. Damit wäre mit einem zu erwartender Gesamtumsatz von 480.000 €/Jahr zu rechnen.

Das Wachstum des globalen Fasermarktes wird mit rund 3,3% p.a. bis 2020 und für Cellulosefasern sogar mit 9,1% p.a. prognostiziert. Demnach ist ein Umsatz von ca. 360.000€ in den nächsten 5 Jahren zu erwarten (Tabelle 8).

**Tabelle 8:** Zu erwartender Umsatz an dermatokosmetischen Cellulosefasern

	2015	2016	2017	2018	2019
Umsatz Vitaminfaser (+9,1%p.a.) in €	60.000	65.460	71.416	77.914	85.004
Gesamt: 5 Jahre	359,794				

In der Textilbranche kann, sowohl mit einem Wachstum von 3%, als auch mit einem Wertschöpfungsfaktor von 5 geplant werden. So ergibt sich ein Gesamtumsatz von ca. 2,55 Mio. € nach 5 Jahren (Tabelle 9).

**Tabelle 9:** Gesamtumsatz textiler Produkte mit dermatokosmetischen Cellulosefasern

	2014	2015	2016	2017	2018
Umsatz Textil mit Vitaminfasern (3% p.a.)	480.000	494.400	509.232	524.508	540.243
Gesamt: 5 Jahre	2.548.383				

## **5. Bewertung des aktualisierten Verwertungsplanes im Vergleich zum ursprünglichen Verwertungskonzept**

Die angestrebte Herstellung von biokompatiblen Cellulose-Spezialfasern mit integrierten dermatologisch wirksamen Bestandteilen konnte realisiert werden. Die in den letzten Jahren stetig steigende Nachfrage nach Spezialkleidung, die durch das wachsende Bewusstsein zur Prävention, vor allem gegen Hautschäden und Hautalterung, als Folge von z.B. UV-Strahlung hervorgerufen wird, ist die Wertschöpfung für Spezialfasern gestiegen. Auch das verstärkte Auftreten von Hautkrankheiten, wie Psoriasis und Neurodermitis, bewirkt eine stetig wachsende Nachfrage von funktionalisierten Textilien im Marktsegment der Medizinprodukte. Daraus ergeben sich im aktualisierten Verwertungskonzept für das Endprodukt höhere zu erwartende wirtschaftliche Effekte.

## **6. Angaben zu erworbenen bzw. angemeldeten Schutzrechten für die Vorhabensergebnisse**

Das Projekt beruht auf der Umsetzung eines bestehenden Schutzrechtes zum Herstellungsverfahren von funktionalisierten Cellulose-Fasern. Entsprechend wurden diesbezüglich keine weiteren Patente angemeldet. Es besteht aber weiter die Möglichkeit entsprechende Endprodukte als Gebrauchsmuster anzumelden.

## **7. Zusammenstellung aller erfolgten bzw. geplanten Veröffentlichungen**

### Artikel:

Meister F., Krieg M., Bauer J., Sellin M., Brückner P.: „Cellulosefasern mit natürlichen Ölen und lipophilen Vitaminen für neue Anwendungen“, Melliand Textilberichte 1/2014, pp.:25-27

### Vortrag:

- 52. Chemiefasertagung Dornbirn, Österreich (11-13. September 2013)  
„Cellulosefasern mit natürlichen Ölen und lipophilen Vitaminen für neue Anwendungen“

### Poster:

1. 52. Chemiefasertagung Dornbirn, Österreich (11-13. September 2013)  
Cellulosic fibers with natural oils and lipophilic vitamins for dermatocosmetic applications; P. Brückner, J. Bauer, M. Sellin, M. Krieg, F. Meister, S. Reinemann; Thuringian Institute of Textile and Plastics Research e.V., Breitscheidstraße 97. 07407 Rudolstadt

### Tagungen, Seminare und Schulungen:

Informationsflyer und Fachgespräch auf folgenden Veranstaltungen:

- Workshop „Textilien für Medizin und Wellness“
- Innovationsforum „Funktionelle Farbstoffe- Innovation in Medizin und Technik“
- Euro BioMat 2013
- Tagung „Fasern in der Medizin“
- 9. Thüringer Biomat Kolloquium
- Innovationsforum Medizintechnik
- Fachtagung Biomaterialien (MedTech Pharma)